論文審査の結果の要旨

申請者氏名　大　坪　嘉　行

PCBは高脂溶性、高絶縁性といった特質により優秀な化合物として大量に使用された化学物質である。しかし、生体に対して強い毒性および内分泌撹乱作用をもつことが明らかとなっており、環境中に拡散したPCBや、PCB製品の廃棄処理方法が大きな問題となっている。

Pseudomonas sp-KKS102株は、PCB／ビフェニルを分解することのできる菌である。本菌株におけるPCB／ビフェニルの分解代謝経路およびその分解に関与する遺伝子群についてはすでに解明されていたが、その遺伝子群の発現調節機構に関しては知見が無かった。PCB／ビフェニルの分解に関与する遺伝子群（*bph*遺伝子群）の発現制御機構に関しては世界的にも知見が乏しい。*bph*遺伝子群の発現制御機構の解明は、その機構を利用したPCBの高分解菌の作製に応用可能であると考えられ、応用的な面からも非常に重要である。本研究は、KKS102株の*bph*遺伝子群の発現制御機構の解明を行い、得られた知見を基礎としてPCBの高分解菌の作製を行ったものである。

本論文の１章では、*bph*遺伝子の各種破壊株の解析により、*bph*遺伝子群の誘導基質が2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoic acid (HOPDA) であることが明らかにされた。HOPDAが誘導基質であることは、HOPDAにより*in vivo*で転写が誘導されることによっても確認されている。PCBビフェニルの分解に関与する遺伝子群の誘導基質を明らかにした初めての例である。

２章では、LysRファミリーに属する転写因子をコードする*bphR*について、破壊株の作製およびその解析によって*bph*遺伝子群の発現制御には関与しないことを示した。さらに、*bphS*遺伝子を新たに発見し、*bphS*の破壊株の解析により*bph*遺伝子群の負の制御因子をコードすることを示した。さらに*bph*遺伝子群上流の転写開始地点の解析を行い、*bphE*上流に唯一存在するプロモーター配列を見いだした(pEプロモーター)。さらに*bph*遺伝子群がオペロンをなすこと、その発現が*bphE*遺伝子上流に存在するpEプロモーターに強く依存すること、*bphS*遺伝子産物の作用はpEプロモーターの発現調節であることを示した。すなわち、*bphS*遺伝子産物は、*bph*遺伝子群の発現制御においてきわめて重要な役割を果たすことを示した。

３章の結果は、*bph*遺伝子群の制御・誘導機構を分子レベルで解明したものである。本章では精製したBphSタンパク質を用いて、BphSタンパク質とpEプロモーター近傍に存在する作用部位（オペレーター）の相互作用について解析を行った。BphSタンパク質がpEプロモーターの直下流の４箇所に結合することを示すとともに、その結合が協同的であることを示した。さらにDNAとBphSの親和性がHOPDAの存在下では弱まることを示した。以上の結果は、BphSが抑制因子であること、その脱抑制因子がHOPDAであることを示している。

4章では、*bphE*上流に相同的組み替えを利用して構成的な強いプロモーターを組み込むという新規手法を用いてPCB／ビフェニルの高分解菌の作製を試み、成功を収めている。この方法はPCB高分解菌の作成方法として積極的に利用されることが期待される。

以上、本研究は、*bph*遺伝子群の発現制御機構の根幹をなす部分を明らかとしたものとして、学術上かつ応用上貢献することが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。